Aus: Medizinische Klinik und Poliklinik der Freien Universität Berlin
im Klinikum Steglitz

Direktor: Professor Dr. R. SCHRÖDER

KLINISCHE BEZIEHUNGEN ZWISCHEN BASOPHILE, HISTAMINSPIEGEL UND POLLINOSE

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

MOTAMED ARDAME, Mohammad Hassan

Mashad, IRAN

Aus: Medizinische Klinik und Poliklinik der Freien Universität Berlin
im Klinikum Steglitz
Direktor: Professor Dr. R. SCHRÖDER

KLINISCHE BEZIEHUNGEN ZWISCHEN BASOPHILE, HISTAMINSPIEGEL UND POLLINOSE

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
MOTAMED ARDAME, Mohammad Hassan
Mashad, IRAN

Referent: Professor Dr. H. MICHEL

Korreferent: Professor Dr. G. KUNKEL

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 7. 12. 1977

Klinische Beziehungen zwischen Basophile, Histaminspiegel und Pollinose

1.0.0 Einleitung

1.1.0 Mediatoren und ihre Bedeutung für die klinische Allergologie, bes. Typ I - Reaktionen

1.1.1 Histamin (Serotonin)

1.2.0 Basophile und Mastzellen und ihre Bedeutung für die klinische Allergologie

1.3.0 Fragestellung

2.0.0 Methodik, Patientenauswahl

2.1.0 Technik der Basophilengewinnung im allgemeinen

2.1.0 Technik der Basophilengewinnung in der Arbeit

2.2.0 Histaminbestimmung im allgemeinen

2.2.1 Histaminbestimmung in der Arbeit

2.3.0 Patientenauswahl

3.0.0 Eigene Ergebnisse

3.1.0 Basophile bei Normalpersonen

3.1.1 Basophile bei Pollenallergikern

3.2.0 Histamin bei Normalpersonen

3.2.1 Histamin bei Pollenallergikern

3.3.0 Beziehung zwischen Basophilen und Histaminwerten bei Gesunden

3.3.1 Beziehung zwischen Basophilen und Histaminwerten bei Pollenallergikern

3.4.0 Beziehung zwischen Basophilen und Histaminwerten und Klinik

4.0.0 Diskussion

5.0.0 Zusammenfassung

6.0.0 Literaturverzeichnis

1.0.0 Einleitung

Die Gruppe der Basophilen weist unter den Leucocyten des zirkulierenden Blutes die größten Probleme auf. Dieser Tatbestand ist auf die zu kleine Zahl der Basophilen im Blut zurückzuführen.

Seit der Veröffentlichung einer Methode zur Absolutzählung der basophilen Leucocyten durch MOORE und JAMES (1953) ist die pathologisch und klinisch bis dahin wenig bearbeitete Funktion dieser Zellen Objekt zahlreicher Untersuchungen geworden. EHRLICH teilte mit ihrer Entdeckung (1891) gleichzeitig ihre Häufigkeit bei chronisch myeloischen Leukämien mit. Durch spätere Untersuchungen wurde ebenfalls eine Vermehrung der basophilen Leucocyten bei vielen anderen Erkrankungen festgestellt.

Der Histamingehalt des Blutes, der unter normalen Bedingungen weitgehend an die Leucocyten gebunden ist (CODE und MITCHELL 1957), ist mit der Basophilenzahl am besten in Beziehung zu bringen (EHRICH 1953, VALENTIN 1955), so daß diese Zellen als Träger von Histamin angesehen werden (SAMPSON 1967, KUNSKE 1971). Der Gehalt der Basophilen an diesen so aktiven Substanzen bringt sie funktionell in Verwandschaft zu den Gewebsbasophilen, von denen sie sonst morphologisch stark verschieden sind.

In den Gewebsmastzellen war schon früher Heparin (HOLMGREN 1937) und Histamin (RILEY 1954) gefunden worden. Da beiden Stoffen eine wesentliche Rolle in der Frühphase der Entzündung zugeschrieben wird, und eine Korrelation zwischen der proteolytischen (fibrinolytischen) Aktivität und den freigesetzten Mengen Histamin und Heparin im Entzündungsgebiet gefunden wurde, sind weitere Beobachtungen sowohl der Gewebs- wie der Blutbasophilen von großem Interesse.

1.1.0 Der Heuschnupfen (Pollenallergie, Heufieber) ist eine sehr häufige allergische Erkrankung. 5 bis 10 % der städtischen Bevölkerung leiden unter Heuschnupfenanfällen unterschiedlicher Intensität. Als Antigene lassen sich vorwiegend Pollen windbestäubter Pflanzen wie Gräser, Sträucher, Bäume aber auch von Blumen nachweisen. Unter Berücksichtigung der botanischen Systematik besteht eine weitgehende Antigenspezifität. Bei hohem Sensibilisierungsgrad genügt der Kontakt von 2 bis 4 Pollenkörnern mit der Nasenschleimhaut, um eine Anfallssymptomatik auszulösen.

Unter den allergischen Erkrankungen des unteren Respirationstraktes spielt das Asthma bronchiale die größte Rolle. Die Unterteilung des allergisch bedingten Asthmas in das inhalationsallergische und das infektallergische Asthma bronchiale ist klinisch im Hinblick auf Therapie und Prognose der Erkrankung wichtig.

Das inhalationsallergische Asthma wird vor allem durch Hausstaub, Inhalationsallergene tierischer Herkunft wie Schuppen, Haaren, Federn, daneben Pollenantigenen hervorgerufen. Dieser Form des Asthmas liegt eine allergische Sofortreaktion von anaphylaktischen Typ (Typ I-Reaktion) zugrunde.

Diese beiden klinischen Formen von Respirationsallergien sind die wichtigsten Krankheitsbilder, die man aufgrund serologischer Charakteristika den Typ I-Reaktionen zuordnen kann.

Die Antigen-Antikörper-Verbindung führt nicht wie bei der Immunität zur Unschädlichmachung eines Giftes oder eines artfremden Eiweißes, sondern zur Freisetzung von kreislaufwirksamen körpereigenen Stoffen wie Histamin, Heparin, Serotonin und Acetylcholin.

Die innerhalb weniger Minuten einsetzende Frühphase wird Histaminphase genannt, da am Ort der Pollenreaktion Histamin aus den Granula der Mastzellen freigesetzt wird. Neben Histamin wird auch 5-Hydroxytryptamin (Serotonin) freigesetzt. Diese Stoffe bedingen eine Permeabilitätsänderung der Basalmembran der Endothelien und zwar zuerst im Bereich der Venolen. Dadurch kommt es zum Austritt von Plasmaeiweiß, von Proteasen und Leucocyten im Gewebe.

1.1.1 Histamin

Histamin ist in der Natur weit verbreitet. Es kommt in Pflanzen (z. B. Claviceps purpurea und Brennesseln) und im Tierreich vor. Es findet sich zum Beispiel im Sekret stechender Insekten. Die Gewebe von Säugetieren enthalten wechselnde Mengen von Histamin. Beim Menschen haben Lungen, Haut, Gastrointestinaltrakt die höchsten Histaminkonzentrationen (um 0,01 mg/g).

Das biogene Amin ist in einer biologisch inaktiven Form in den Gewebs- und Blutmastzellen gespeichert, die außerdem große Mengen an Heparin enthalten.

Histamin wird aus der Aminosäure Histidin durch eine Histidin-Decarboxylase intrazellulär gebildet. Histamin erregt direkt einen Teil der glatten Muskulatur; so reagieren die Bronchial-, Darm- und Uterusmuskulatur mit einer Kontraktion. Für die Pathophysiologie besonders wichtig ist die bronchokonstriktorische Wirkung von Histamin beim echten allergischen Asthma. Die Gefäßmuskulatur beim Lebenden erschlafft in Anwesenheit von Histamin. Diese vasodilatatorische Wirkung ist die Ursache für die Blutdrucksenkung. Histamin erweitert die Kapillaren und steigert deren Permeabilität erheblich, so daß Plasma aus dem Gefäßbett in das Gewebe übergeht. Morphologisch wird eine Auflockerung der Kittleisten des Endothels beobachtet. Es entwickelt sich ein anaphylaktisches Ödem im Sinne einer Insudation nach LETTERER.

Bei intrakutaner Applikation von Histamin tritt eine juckende Quaddel bzw. schmerzhafte Rötung auf (Kapillardilatation), die von einem Ödem begleitet wird (Permeabilitätssteigerung). Das Ödem kann so stark werden, daß sich Schichten abheben und eine Blase entsteht.

Histaminfreisetzung

Das in den Zellen gespeicherte, biologisch inaktive und vor dem Abbau geschützte Histamin kann aus dieser Bindung freigesetzt werden.

Der einfachste Vorgang durch den Histamin aus seiner Fixierung freigesetzt wird ist die Zellzerstörung, die zum Beispiel bei großen Weichteilverletzungen vorkommt. Außerdem wird Histamin durch die verschiedensten chemischen Eingriffe und wahrscheinlich nervöse Impulse, durch Stoffe wie Morphin und andere Opiumalkaloide, geradkettige Monoalkylamine, Dextran, Kondensationsprodikt aus P-Methoxyphenethylmethylamin mit Formaldehyd (48/80) freigesetzt. Ebenfalls erfolgt eine Histaminfreisetzung bei allergischen Reaktionen, deren Symptome sowohl bei lokalem als auch bei generalisiertem Auftreten weitgehend eben von dieser Histaminentfesselung geprägt werden. Dies alles erklärt die Bedeutung von Histamin bei allergischen Reaktionen.

1.2.0 Basophile und Mastzellen und ihre Bedeutung für die klinische Allergologie

Basophile (Blutmastzellen) sind im Blut und im Knochenmark nur in geringer Zahl (etwa 0,5 %) vorhanden. Ihre Größe liegt zwischen 8 - 10μ. Zwischen den Blutbasophilen und den Gewebsmastzellen besteht eine funktionelle Einheit mit kompensatorischen Beziehungen zwischen beiden Zellarten, wenngleich es sich grundsätzlich um getrennte Zellsysteme handelt (Tab. 1). Blutbasophile wie Gewebsmastzellen sind Träger des Heparins bzw. seiner Vorstufen (BEHRENS und TAUBERT, 1952; HOLMGREN und WILANDER, 1937) und des Histamins (GRAHAM und WHEELWIGT, 1957; GRAHAM und LOWRY, 1955; CODE und MITCHELL 1957; PRUZANSKY und PATTERSON, 1966; KUNSKE und PRUZANSKY, 1971), das durch "Histaminfreisetzer" über eine Auflösung der Granula spezifisch freigesetzt wird.

Die physiologische Bedeutung der Blutbasophilen beruht im wesentlichen auf ihrem Gehalt an Heparin und Histamin. Beide haben Bedeutung beim Abbau hochmolekularer pathologischer Eiweißkörper. Da schon länger bekannt ist, daß das im Blut enthaltene Histamin fast ausschließlich aus den basophilen Granulocyten stammt und daß es bei Ablauf einer Antigen-Antikörper-Reaktion zur Histamin - freisetzung kommt, ist die Beziehung zwischen den basophilen Granulocyten und dem Histaminspiegel bei Allergikern, hier bei Pollenallergikern, von Interesse.

	Blutbasophile	Gewebsmastzellen
Größe:	8 - 10 μ	15 - 30 μ
Granulation:	gröber	etwas feiner und gleichmäßiger
Oxydasereaktion:	positiv	negativ
Methylalkohol:	löst die Granula	löst die Granula nicht
Phagocytose:	fähig	nicht fähig

Tabelle 1: Morphologische und physiologische Unterschiede zwischen den Blutbasophilen und den Gewebsmastzellen.

1.3.0 Fragestellung

Bei einer Antigen-Antikörper-Reaktion kommt es, wie auf S. 8 angeführt, zur Freisetzung von kreislaufwirksamen körpereigenen Stoffen, unter anderem von Histamin. Dieses Amin ist in einer biologisch inaktiven Form in den Gewebs- und Blutmastzellen lokalisiert. Es ist daher von Interesse, eventuell bestehende Beziehungen zwischen den Werten beider Parameter herauszufinden. In dieser Arbeit werden Beziehungen zwischen dem Histaminspiegel (ng/ml) und der Basophilenzahl (mm^3) im Vollblut bei Patienten mit klinisch und durch Hauttestungen diagnostizierter Pollenallergie und bei Gesunden diskutiert.

2.0.0 Methodik, Patientenauswahl

Die Blutabnahme für Histaminbestimmung wurde mit einer Leucocytenzählung und der Anfertigung von zwei Blutausstrichen kombiniert.

Für die Leucocytenzählung wurde 4 ml Blut abgenommen, es wurde nach dem Coulter-Counter-Prinzip gezählt. Diese Methode ermöglicht eine genaue Zählung und vermindert Fehler in der Beurteilung. Abteilung für Innere Medizin mit Schwerpunkt Hämatologie (Prof. Dr. H. Brücher) der WE 1 - Medizinische Klinik und Poliklinik

Bei dieser Methode haben wir das international geläufige nicht-optische Coulter-Prinzip verwendet, bei dem neben Leucocyten noch 6 andere Partikel einzeln gezählt und gemessen werden.

Coulter-Prinzip:

Mit Hilfe eines Quecksilbersiphons (Manometer) wird eine bestimmte Zellsuspension in einem Elektrolyten angesogen, sie durchfließt eine Öffnung (Kapillare) bestimmter Größe. Zwischen Elektroden im Inneren der Kapillare entsteht eine Spannung. Wenn eine Zelle die Öffnung passiert, kommt es zu einer Verschiebung von Elektrolyten und dadurch zu einer Veränderung der Impedanz zwischen den zwei Elektroden. Es entsteht ein Spannungsimpuls, dessen Größe dem Volumen der Zelle proportional ist. Die Spannungsimpulse werden verstärkt und sie erscheinen auf dem Bildschirm als senkrechter Anschlag. Die mittlere Zellgröße wird durch die relative Höhe der Ausschläge angezeigt.

Die Impulse werden außerdem an eine Schwellenwertschaltung weitergeleitet, mit der ein bestimmter Schwellenwert gewählt werden kann. Impulse, die diesen Wert übersteigen, werden gezählt.

Verdünnungseinheit - Ablauf der Vorgänge:

1. Etwa 1,0 ml Blut wird durch den Ansauger für Vollblut aus dem Reagenzglas in das System gesogen.

2. Vom Blutverteilerventil werden eine abgemessene Menge Blut und 10 ml Verdünnungslösung in die Mischkammer für Leucocyten gedrückt.

3. Blut und der Verdünner vermischen sich langsam in der Mischkammer für Leucocyten und ergeben eine Verdünnung von 1 : 224

4. Die Verdünnung aus der Mischkammer für Leucocyten wird in der Hämolysekammer mit 1,0 ml Hämolysereagenz vermischt (Verdünnung 1 : 250). Diese Verdünnung bleibt solange in der Hämolysekammer, bis die Erythrozyten sich auflösung und das Hämoglobin freigesetzt wird.

5. Diese Hämolyseverdünnung wird nun in das Zählbad für Erythrozyten gegeben. Hier werden alle Messungen dreifach vorgenommen und der Mittelwert der 3 Messungen registriert, gleichzeitig wird auch Hb und Erythrozytenzahl bestimmt.

Die so errechnete Leucocytenzahl wird in mm^3/Blut angegeben.

Da das Verhältnis zwischen Leucocyten und Erythrozyten höher als 1 : 1.000 ist, wird die Zählung der Leucocyten in Einheiten vorgenommen, oder die Einheiten werden mit 1.000 multipliziert, wobei eine normale Zählung für Personen männlichen und weiblichen Geschlechts zwischen 5.000 und 10.000 liegt.

Bei der Zählung von Leucocyten ist es wichtig, die Probe dem Einfluß der Erythrozyten zu entziehen. Dies geschieht durch die Hämolyse. Da die Suspension eine mikroskopische Öffnung passieren muß, ist es wichtig, daß der Hämolysevorgang gründlich durchgeführt wird, so daß die Überbleibsel der Erythrozytenhüllen in der Rauschzone liegen, auf die die Detektorschaltung nicht anspricht.

2.1.0 Technik der Basophilengewinnung im allgemeinen

Mehrere Autoren, u. a. ANGELI, TEDESCHI et CAVAZZUTI (1954), MOORE und JAMES (1953), RORSMAN (1957) haben versucht, die Basophilen direkt in den Zählkammern von Fuchs-Rosenthal zu zählen. Andere Autoren LABENDZINSKI (1956) benutzten die indirekte Methode für die Zählung von Basophilen.

Die Methode von MOORE und JAMES und ihre Modifikation beruhen auf dem Prinzip der Hämolysierung einer Blutprobe mit einer Saponinlösung und der selektiven Anfärbung der Basophilen mit Toluidinblau. Diese Technik hat durch den Saponin- und Alkoholgehalt der Zählflüssigkeit den Nachteil, daß die Färbung nach kurzer Zeit verschwimmt, wenn die gefüllten Pipetten nicht sehr rasch ausgezählt oder in einem Kühlschrank gelagert werden.

2.1.1 Technik der Basophilengewinnung in der Arbeit

Für die Basophilengewinnung haben wir die indirekte Methode gewählt, hier wurden die angefertigten Blutausstriche nach GIEMSA gefärbt. Bei dieser Färbung unterscheiden sich die Basophilen deutlich von den anderen Leucocyten. Aufgrund der ungleichen Verteilung der Basophilen haben wir bis zu 1.000 Leucocyten pro Ausstrich gezählt. Wenn selbst bei einer so großen Leucocytenzahl kein Basophile vorhanden war, zählten wir größere Mengen aus, um uns in der Größenordnung der Basocytopenie zu orientieren.

Aus dem Bruch:

$$\frac{\text{Gesamtleucocytenzahl} \cdot \text{Zahl der Basophilen in 1.000 Leucocyten}}{1.000}$$

ergaben sich indirekt die absoluten Basophilenwerte (mm^3).

2.2.0 Histaminbestimmung im allgemeinen

Histamin kann biologisch und chemisch bestimmt werden.

BARSOUM und GADDUM (1935) bestimmten Histamin biologisch am Meerschweinchendarm. Zur Isolierung von Histamin aus Geweben wurde Trichloressigsäure verwendet, die die Gewebsproteine ausfällt und Histamin aus den Zellen extrahiert. Das Trichloressigsäurefiltrat wurde mit Äther geschüttelt, dann mit konzentrierter Salzsäure behandelt und bis zur Trockenheit eingedampft. Das Überbleibsel wurde Mit Äthanol gewaschen. Danach wurde Histamin am isolierten Meerschweinchenileum in Tyrodelösung bestimmt. CODE (1937) verbesserte diese Methode zur quantitativen Histaminbestimmung im Blut und erreichte einen Ausbeutewert von 90 % nach Histamingabe zum Blut. ROSENTHAL und TABOR (1948) bestimmten Histamin kolorimetrisch mit 4-Nitroanilin, wobei Histamin mit Rosafarbe in Lösung ging und nach dem Lambert-Beer'schen Gesetz quantitativ bestimmt wurde. Diese Methode weist Histamin erst ab 500 ng/ml nach.

Andere Autoren, wie SHORE, BURKHALTER und CHON (1959) führten die fluorometrische Histaminbestimmung mit o-Phthalaldehyd (OPT) ein. OPT bildet mit Histamin ein fluoreszierendes Molekül, das bei 360 nm optimal angeregt wird und bei 450 nm maximal fluoresziert.

LOWRY, GRAHAM, HARRIS, PRIEBAT, MARKS und BREGMAN (1954) koppelten Histamin an Dinitrofluorobenzol und bestimmten die Konzentration bei 360 nm Wellenlänge.

Zur Histaminisolierung verwendeten sie die Adsorption an Decalsosäulen. Histamin wird bis 0,4 ng/ml mit dieser Decalsocolorimetrischen Methode nachgewiesen. Bei der Decalso-flourometrischen Methode mit OPT wurde Histamin im Plasma noch bis 0,004 ng/ml nachgewiesen (GRAHAM, SCARPELLINI, HUPKA und LOWRY 1968).

KREMZNER und WILSON (1961) verwendeten zur Isolierung von Histamin einen stark basischen Anionenaustausch. THUNBERG (1967) isolierte Histamin mit dem sauren Kationenaustauscher Dowex 50 WX 4 und eluierte Histamin mit 2 n HCl. LORENZ, REIMANN, BARTH, KUSCHE, MEYER, DOENICKE und HUTZEL (1972) verwendeten bei der Ionenaustauschchromatographie den stark sauren Kationenaustauscher Dowex 50 WX 8 und eluierten Histamin mit 4 n HCl. Der Ausbetewert nach Zugabe von Histamin zum Plasma lag bei 100 %.

Den Einfluß von pH-Wert, Zeit, Temperatur und Ionenstärke auf die Bildung des fluoreszierenden Moleküles zwischen OPT und Histamin untersuchten HAKANSON, RÖNNEBERG und SJÖLUND (1972).

2.2.1 Histaminbestimmung in der Arbeit

Histamin wurde mit geringer Modifizierung nach der Methode von LORENZ, REIMANN, BARTH, KUSCHE, MEYER, DOENICKE und HUTZEL (1972) fluorometrisch im Vollblut bestimmt.

Die Technik ist in Stichworten folgende.

Aus der Cubitalvene 5 ml Blut aufziehen und zu 5 ml 1n $HClO_4$ geben, gut mischen, 10 Minuten stehenlassen und dann bei 900 Umdrehungen 10 Minuten zentrifugieren. Den Überstand abgießen und ihn noch einmal zentrifugieren, bis er klar ist. Am pH-Meter 2 ml des Überstandes mit 2n NaOH neutralisieren, nun 5 ml 0,1 mol Phosphatpuffer (PP) pH = 6,5 hinzufügen und dabei gleichzeitig die Glaselektrode spülen. Auf die Glassäule 0,5 ml Dowexaufschwemmung geben, warten bis Dowex sich auf dem Glasplattensieb gesetzt hat. Um Dowex mit der Eppendorfpipette aufzunehmen, die Spitze von dem Plastikhütchen abschneiden. Nun läßt sich 5 ml 0,1 mol PP (pH = 6,5) durch die Säule laufen und gibt dann den gepufferten Überstand auf die Säule, um Histamin zu isolieren. Danach mit 2,5 ml 0,1 mol PP (pH = 6,5), 0,5 ml Aqua bidestillata und 2,5 ml 1n HCl spülen. Jetzt Histamin mit 1,5 ml 4n HCl eluieren und das Eluat mit 1,5 ml Aqua bidestillata verdünnen. Die Fluoreszenz der Eichlösungen und der Proben gegen den Leerwert in Mikroküvetten messen.

Fluoreszenzansatz:

Leerwert	Probe	Eichlösung	Menge
2n HCl	verdünntes Eluat	Histaminstandard	1,0 ml
5n NaOH	5n NaOH	5n NaOH	0,5 ml
1%iges OPT	1%iges OPT	1%iges OPT	0,1 ml
und nach genau 2 Minuten			
1 mol H_3PO_4	1 mol H_3PO_4	1 mol H_3PO_4	1,0 ml

Mit Eppendorfpipetten wird pipettiert. Die Zeit von 2 Minuten nach dem Einpipettieren von OPT und der anschließenden Gabe von 1 mol H_3PO_4 muß genau eingehalten werden. Den Fluoreszenzansatz an einem rotierenden Mixer gut mischen und dann für die Fluoreszenzbestimmung jeweils 0,5 ml des Fluoreszenzansatzes mit der Eppendorfpipette in die Mikroküvetten füllen. Das fluoreszierende Molekül ist im sauren Milieu nach Zugabe der 1 mol H_3PO_4 bei Zimmertemperatur bis zu 20 Stunden stabil (HAKANSON, RÖNNEBERG und SJÖLUND 1972). Eine Stabilität des Fluoreszierenden Moleküls von mindestens 1 Stunde geben LORENZ, REIMANN, BARTH, KUSCHE, MEYER, DOENICKE und HUTZEL (1972) im sauren Milieu bei 21 ^{o} C an.

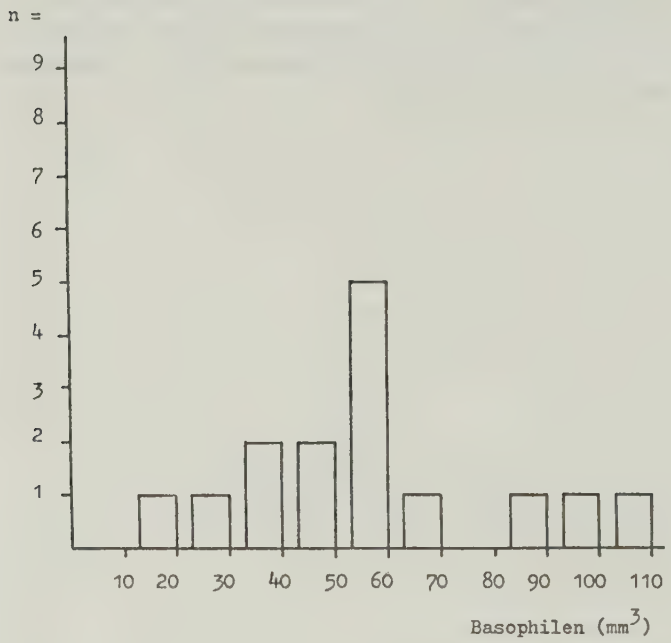
2.3.0 Patientenauswahl

Es wurde bei 62 Patienten aus der Allergiesprechstunde der medizinischen Klinik und Poliklinik des Klinikums Steglitz vom 26.4.1972 bis 14.2.1973 Histaminspiegel im Vollblut und Basophile gezählt. Es wurden Patienten mit einer Pollinose untersucht. Zum Vergleich dienten die Werte von Basophile und Histaminspiegel bei 15 Normalpersonen ohne allergische Diathese, bzw. ohne klinische Manifestation einer allergischen Erkrankung. Für die statistische Auswertung wurden die Anamnese und der Cutan und Intracutantest zur Sicherung der Diagnose berücksichtigt.

3.0.0 Eigene Ergebnisse

3.1.0 Basophile bei Normalpersonen

Bei 15 Normalpersonen ohne allergische Diathese wurde für die Basophile im Vollblut ein Mittelwert von y = 54,56 mm^3 mit einer Standardabweichung von ± 24,62 mm^3 gefunden. Die Werte lagen zwischen 15,9 - 100,8 mm^3.



Figur 1: Häufigkeitspolygon für die Basophile im Vollblut bei Normalpersonen ohne allergische Diathese

n:	15	(n = Anzahl der Personen)
y:	54,56 mm^3	(y = Mittelwert)
s:	± 24,62	(s = Standardabweichung)
Schwankungsbreite:	15,90 - 100,8 mm^3	

Ein Vergleich zwischen unseren Werten und denen die durch andere Autoren ermittelt worden sind zeigt Tab. 2.

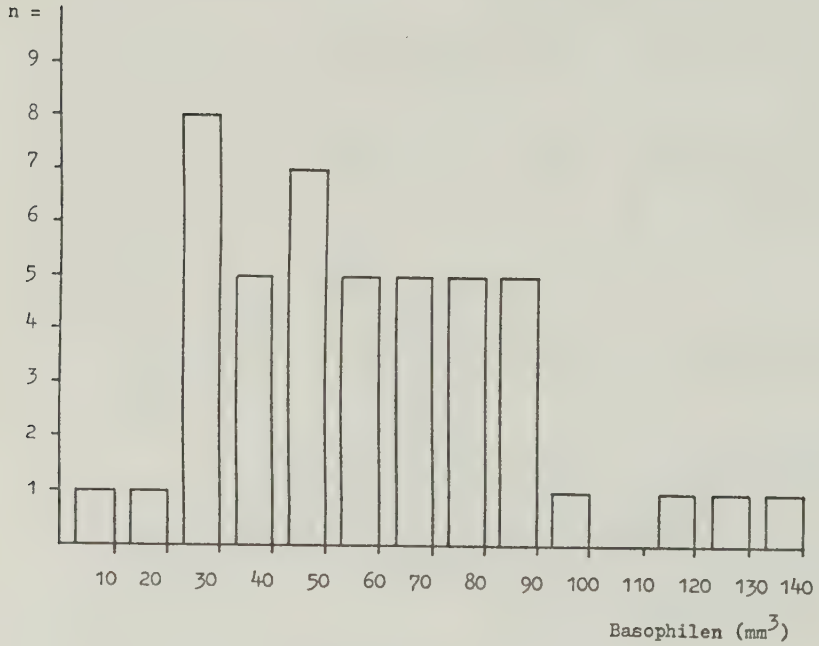
Autoren	Zahl der Personen	Basophilen mm^3	Methode
MOORE u. JAMES (1953)	36 M. 33 F.	46,7 ± 20,1 40,6 ± 18,9	direkt durch Kammerzählung
ANGELI, TEDESCHI u. CAVAZZUTI (1954)	15 M. 15 F.	42,8 ± 27,92 39,1 ± 20,21	"
	15 M. 15 F.	41,5 ± 22,40 39,8 ± 20,48	indirekt durch Blutausstrich
BORSMAN (1957)	51 M. 45 F.	43,0 ± 25,7 46,0 ± 21,9	direkt durch Kammerzählung
BOSEILA (1959)	62 M. 58 F.	37,1 ± 24,7 39,6 ± 27,7	"
von uns ermittelte Werte	15 M. + F.	54,56 ± 24,62	indirekt durch Blutausstrich

Tab. 2: Durch einige Autoren ermittelte Basophilen pro mm^3 bei den gesunden Personen

3.1.1 Basophile bei Pollenallergikern

Bei 46 Patienten mit Pollenallergie wurden während der expositionsfreien und Pollenflugzeit die Basophilen im Vollblut bestimmt.

Wir fanden einen Mittelwert von y = 55,99 mm^3 mit einer Standardabweichung von $\pm$ 28,13 und einer Schwankungsbreite von 7,4 - 132 mm^3.

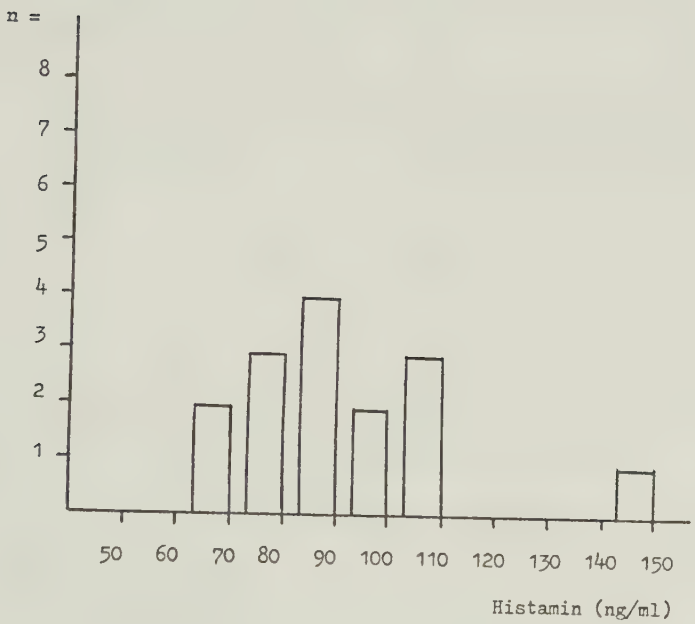


Figur 2: Häufigkeitspolygon für die Basophile (mm^3) im Vollblut bei Pollenallergikern.

n:	46
y:	55,99 mm^3
s:	$\pm$ 28,13 mm^3
Schwankungsbreite:	7,40 - 132 mm^3

3.2.0 Histamin bei Normalpersonen

Bei 15 Normalpersonen ohne allergische Diathese wurde für den Histaminspiegel im Vollblut ein Mittelwert von x = 88,86 ng/ml mit einer Standardabweichung von ± 20,76 gefunden. Die Werte lagen zwischen 63 - 145 ng/ml.

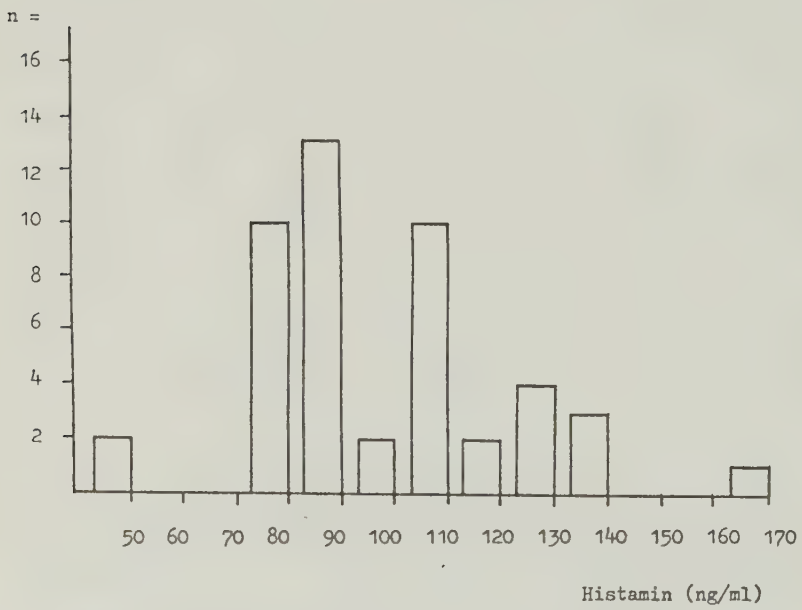


Figur 3: Häufigkeitspolygon für den Histaminspiegel im Vollblut bei Normalpersonen ohne allergische Diathese

n:	15
xi	88,86 ng/ml
s:	± 20,76
Schwankungsbreite:	63 - 145 ng/ml

3.2.1 Histamin bei Pollenallergikern

Bei 46 Patienten mit Pollenallergie wurde während der expositionsfreien und der Pollenflugzeit der Histaminspiegel im Vollblut bestimmt. Wir fanden hier einen Mittelwert von $\bar{x}$ = 94,82 ng/ml mit einer Standardabweichung von $\pm$ 24,4. Die Werte lagen zwischen 42 - 170 ng/ml.



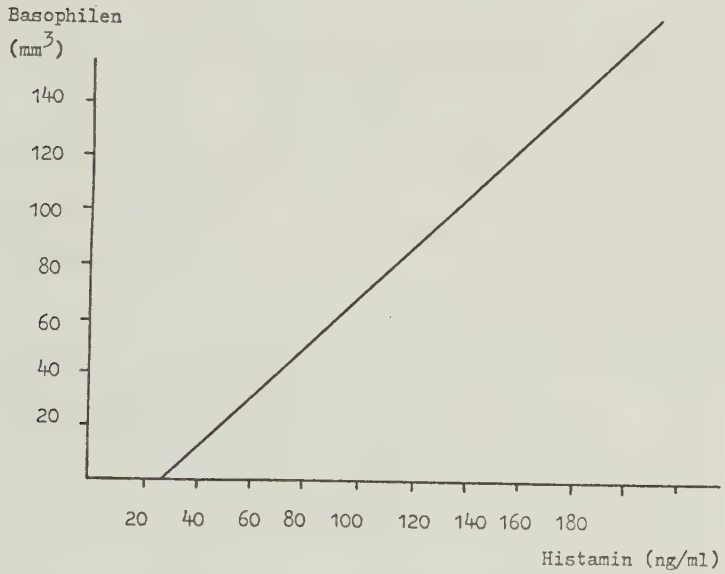
Figur 4: Häufigkeitspolygon für den Histaminspiegel im Vollblut

n:	46
$\bar{x}$:	94,82 ng/ml
s:	$\pm$ 24,4
Schwankungsbreite:	42 - 170 ng/ml

3.3.0 Beziehungen zwischen Basophilen und Histaminwerten bei Gesunden
(Institut für Medizinische Statistik und Dokumentation, Prof. Dr. I. Fuchs)

Bei 15 Gesunden haben wir den Histaminspiegel (ng/ml) und die Basophilen (mm^3) bestimmt. Für den Histaminspiegel wurde ein Wert von $\bar{x}$ = 88,86 $\pm$ = 20,76 ng/ml, für die Basophilen ein Wert von y = 54,56 $\pm$ = 24,62 mm^3 berechnet. Es wurde dann untersucht, ob ein Zusammenhang zwischen der Anzahl der Basophilen und dem Histaminspiegel besteht.

Dazu benutzten wir das Verfahren der linearen Regression und fanden einen statistisch gesicherten Zusammenhang zwischen den beiden Größen bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $2\alpha <$ 0,1 %



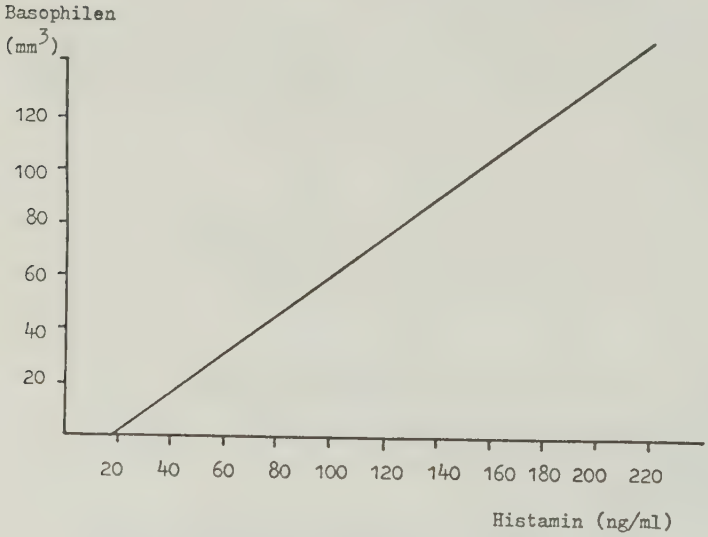
Figur 5: Beziehung zwischen den Histaminwerten und den Basophilen im Vollblut bei Gesunden

Formel I: y = bx + a = 0,99 x - 33,48
r = 0,835 (r = Korrelationskoeffizient)
n = 15
$2\alpha < 0,1$ %

3.3.1 Beziehung zwischen Basophilen und Histaminwerten bei den Pollenallergikern

Bei 46 Pollenallergikern wurden der Histaminspiegel (ng/ml) und die Basophilen (mm^3) bestimmt. Für den Histaminspiegel wurde ein Wert von $x = 94,82 \pm 24,4$ ng/ml und für die Basophilen ein Wert von $x = 55,9 \pm 28,13$ mm^3 berechnet.

Auch hier wurde anhand der linearen Regression ein statistisch gesicherter Zusammenhang zwischen den beiden Größen bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $2\alpha < 0,1$ % festgestellt.



Figur 6: Beziehung zwischen den Histaminwerten und den Basophilen im Vollblut bei den Pollenallergikern

Formel II: $y = bx + a = 0,72\ x = 12,36$

$n = 46$

$r = 0,626$

$2\alpha < 0,1$ %

3.4.0 Beziehung zwischen Basophilen, Vollbluthistaminämie und Klinik

Bei Gesunden beiderlei Geschlechts, verschiedener Altersstufen und ohne allergische Diathese fanden wir für die Basophilen einen Mittelwert von 54,56 ± 24,62 mm^3 mit einer Schwankungsbreite von 15,9 - 100,8 mm^3, für den Histaminspiegel wurde ein Mittelwert von 94,82 ± 24,4 ng/ml mit einer Schwankungsbreite von 42 - 170 ng/ml berechnet.

Bei einer jungen Kontrollperson fanden wir für Basophile und Histaminspiegel extrem hohe Werte.

	Basophile (mm^3)	Histamin (ng/ml)
G.A.	150,4	152

Für diese hohen Werte konnten wir keine eindeutige Erklärung finden. 1969 wurde wegen einer primären Sterilität und Portioerosion eine Curettage bzw. Konisation durchgeführt; sonstige Erkrankungen fanden sich nicht in der Anamnese.

Bei den Pollenallergikern wurden ebenfalls hohe bzw. niedrige Werte festgestellt.

	Basophile (mm^3)	Histamin (ng/ml)
S.J.	132	131
H.H.	121	124
K.G.	22	87
K. H.-R.	7,4	79

Figur 7: Einige extrem hohe bzw. niedrige Werte für Basophile und Histaminspiegel bei Pollenallergikern

4.0.0 Diskussion

Viele Autoren haben eine enge Korrelation zwischen der Höhe des Histaminspiegels und der Anzahl der basophilen Leucocyten im Vollblut gefunden.

CODE und MITCHELL (1957) bestimmten den Abfall des Histaminspiegels nach Kortisongabe im Vollblut bei den Erwachsenen. Parallel mit dem Histaminspiegel sank auch die Zahl basophiler Leucocyten im Blut.

RORSMAN und ROSENGERN (1958) untersuchten den Histaminspiegel und die basophilen Leucocyten bei Gesunden und Urticaria-Patienten. In der Urticariagruppe wurde ein statistisch sicherer Abfall der Mittelwerte der basophilen Leucocyten und des Bluthistamins festgestellt; es bestand auch eine starke Korrelation zwischen den diesbezüglichen Werten.

Eine signifikante Erhöhung des Histaminspiegels im Vollblut fanden PORTER und MITCHELL (1970) bei Kindern mit akutem oder chronischem Asthma bronchiale, auch wurde die enge Korrelation zwischen dem Histaminspiegel und den basophilen Leucocyten bestätigt.

KUNSKE und PRUZANSKY (1971) stellten bei den Gesunden eine fast lineare Beziehung von 1 : 1 zwischen dem Histaminspiegel und der Anzahl der basophilen Leucocyten fest. Sie bestätigten auch die Hypothese, daß Histaminfreisetzung aus Leucocyten nur bei Basophilen stattfinden. Ähnliche Resultate wurden auch von SAMPSON und ARCHER (1967) und PRUZANSKY und PATTERSON (1970) mitgeteilt.

PFEIFFER und Mitarb. (1971) haben bei Schizophrenen beiderlei Geschlechts ebenfalls eine enge Korrelation zwischen basophilen Leucocyten und dem Histaminspiegel festgestellt. Der Korrelationscoeffizient betrug bei den Frauen 0,93 und bei den Männern 0,78.

In unserer Arbeit wurden 15 Gesunde und 46 Pollenallergiker während der Pollenflugsaison und in der expositionsfreien Jahreszeit untersucht, ob ein Zusammenhang zwischen der Anzahl der basophilen Granulocyten und dem Histaminspiegel besteht. Dazu benutzten wir das Verfahren der linearen Regression und fanden bei den Gesunden mit einem Korrelationskoeffizient von 0,835 und Pollenallergikern mit einem Korrelationskoeffizient von 0,626 einen statistisch gesicherten Zusammenhang zwischen beiden Größen. Die benutzten Rechenformeln finden sich in Fig. 5 (Formel I) S.25 und Fig. 6 (Formel II) S.26

Außerdem wurde geprüft, ob sich Histaminwerte und Anzahl der basophilen Leucocyten der Gesunden und denen der Pollenallergiker statistisch signifikant unterscheiden. Wir benutzten den Wilcoxon-Test für 2 Stichproben. Bei Zugrundelegung einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $2\alpha < 5$ % konnten wir zwischen den beiden Gruppen keinen Unterschied statistisch sichern, obwohl die Histamin- und Basophilenmittelwerte bei den Pollenallergikern höher waren als bei den Gesunden.

	Basophile mm^3	Histamin ng/ml
Gesunden	54,56 ± 24,62	88,86 ± 20,76
Pollenallergiker	55,99 ± 28,13	94,82 ± 24,4

Figur 8: Mittelwerte für Basophile und Histamin bei Gesunden und Pollenallergikern

Aus dem negativen Ausfall der statistischen Untersuchungen kann jedoch nicht geschlossen werden, daß sich Gesunde und Pollenallergiker in ihren Histaminwerten und in den Anzahl der basophilen Granulocyten nicht voneinander unterscheiden.

Derartige Unterschiede konnten lediglich statistisch nicht gesichert werden. Das hängt wohl mit der aus statistischer Sicht geringen Fallzahl unserer Untersuchungen bei Gesunden (n = 15) zusammen. Der größeren Anzahl von Pollenallergikern (n = 46) stand eine zu kleine Vergleichsgruppe gegenüber.

5.0.0 Zusammenfassung

5.1.0 Die Zahl der basophilen Granulocyten und der Histaminspiegel im Vollblut wurden bei 15 Normalpersonen ohne allergische Diathese und 46 Pollenallergikern bestimmt.

5.2.0 Für die Zählung der Granulocyten wurde die indirekte Methode gewählt; 2 Blutausstriche wurden angefertigt und nach Giemsa gefärbt. Zusätzlich wurden die Leucocytengesamtzahl nach dem Coulter-Prinzip ermittelt. Aus dem Bruch

$$\frac{\text{Gesamtleucocytenzahl} \cdot \text{Zahl der Basophilen in 1.000 Leucocyten}}{1.000}$$

ergaben sich indirekt die absoluten Basophilenwerte in mm^3.

5.3.0 Histamin wurde mit der Säulenionenaustauschchromatographie aus dem enteiweißten Blut isoliert und dann fluorometrisch - nach Bildung des fluoreszierenden Moleküls mit o-phthalaldelyd (OPT) - quantitativ bestimmt.

5.4.0 Ein statistisch gesicherter Zusammenhang zwischen den basophilen Granulocyten und dem Histaminspiegel wurde durch das Verfahren der linearen Regression bei Gesunden und Pollenallergikern festgestellt.

ANGELI, G., TEDESCHI, G. and CAVAZZUTI, F.:

Il tasso dei basofili del sangue periferico nel soggetto normale, valutato con un nuovo metodo di conta diretta.

Il progresso medico 10 : 742 (1954)

BARSOUM, G.S. and J.H. GADDUM:

The pharmacological estimation of adenosine and histamine in blood.

J. physiol. (lond.) 85 : 1 - 14 (1935)

BÄUMER, A., J. SCHALK:

Darstellung von Basophilen im Leukozytenanreicherungspräparat.

Zeitschrift Rheumaforschung 27 : 133 - 136 (1968)

BEHRENS, M. und M. TAUBERT:

Der Nachweis von Heparin in den basophilen Leukocyten.

Klin. Wschr. 30 Jahrg. 76 - 78 (1952)

BOSEILA, A.-W.A.:

The normal count of basophil leucocytes in human blood.

Acta med. scandinav. 163 : 525 - 529 (1959)

BRECHTER, C. and H. RORSMAN:

Basophil leukocytes in hyposensitisation.

Int. arch. allergy 28 : 35 - 40 (1965)

CODE, C.F.:

The quantitative estimation of histamine in the blood.

J. physiol. (lond.) 89 : 257 - 268 (1937)

CODE, C.F. and R.G. MITCHELL:

Histamine, eosinophils and basophils in the blood.

J. physiol. (lond.) 136 : 449 - 468 (1957)

CUGNINI, A. et P.C. FREI:

Le nombre absolu des basophiles dans les manifestations allergiques.

Helvetica medica acta suppl. 50 : 142 - 143 (1970)

EHRICH, W.E.:

Comments and communications: Histamine in mastcells.

Science 118 : 603 (1953)

EHRLICH, P.:

Farbenanalytische Untersuchungen zur Histologie und Klinik des Blutes.

Verlag Hirschwald, Berlin (1891)

GRAHAM, H.T., WHEELWRIGHT, F., PARISH, H.H., JR., MARKS, A.R. and LOWRY, O.H.:

Distribution of histamine among blood elements.

Federation proc. 11 : 350 (1952)

GRAHAM, H.T., LOWRY, O.H., WHEELWRIGHT, F., LENZ, M.A. and H.H. PARISCH, JR.:

Distribution of histamine among leukocytes and platelets.

Blood 10 : 467 - 481 (1955)

GRAHAM, H., SCARPELLINI, J.A.D., HUPKA, B.P. and O.H. LOWRY:

Measurement and normal range of free histamine in human blood plasma.

Biochem. pharmacol. 17 : 2271 - 2280 (1968)

HAKANSON, R., RÖNNBERG, A.L. and K. SJÖLUND:

Fluorometric determination of histamine with OPT: optimum reaction conditions and tests of identity.

Analyt. biochem. 47 : 356 - 370 (1972)

HAMERSTON, O., L. ELVEBACK, F. HALBERG and R.J. GULLY:

Correlation of absolute basophil and eosinophil counts in blood from institutionalized human subjects.

Jornal of applied physiology 9 : 205 - 207 (1956)

HOLMGREN, H. and WILANDER, O.:

Beitrag zur Kenntnis der Chemie und Funktion der Ehrlich'schen Mastzellen.

Ztsch. f. mikr. anat. Forsch. 42 : 242 (1937)

ISHIZAKA, K., H. TOMIOKA and T. ISHIZAKA:

Mechanisms of passive sensitization.

Journal of immunol. 105 : 1459 - 1467 (1970)

ISHIZAKA, T., R. DEBENARDO, H. TOMIOKA, L.M. LICHTENSTEIN and K. ISHIZAKA:

Identification of basophil granulocytes as a site of allergic histamine release.

Jornal of immunology 108 : 1000 - 1008 (1972)

KOVACS, G.S.:

A simple direct method for absolute basophil and eosinophil counts from the same blood sample.

Folia haemat., 5 : 166 - 175 (1961)

KREMZNER, L.T. and I.B. WILSON:

A procedure for the determination of histamine.

Biochim. biophys. acta (amst.) 50 : 364 - 367 (1961)

KUNSKE, R.D., J.J. PRUZANSKY and R. PATTERSON:

Localization of human blood to basophils.

Pro. soc. exp. med. 138 : 262 - 266 (1971)

LABENDZINSKI, F.:

Recherches quantitatiues sur les basophiles du sang peripherique au moyen de la gotte epaisse.

Sang 27 : 432 - 437 (1956)

LETTERER, E.:

Allgemeine Pathologie, Grundlagen und Probleme. Ein Lehrbuch.

Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1959)

LORENZ, W., REIMANN, H.J., BARTH, H., KUSCHE, J., MEYER, R., DOENICKE, A. and M. HUTZEL:

A sensitive and specific method for the determination of histamine in human whole blood and plasma.

Hoppe - Seylers z. Physiol. chem. 353 : 911 - 920 (1972)

LOWRY, O.H., GRAHAM, H.T., HARRIS, F.B., PRIEBAT, M.K., MARKS, A.R. und R.U. BREGMAN:

The chemical measurement of histamine in blood plasma and cells.

J. pharmacol. exp. ther. 112 : 116 - 126 (1954)

MIßMAHL, H.P.:

Der feinstrukturelle Aufbau der Granula basophiler Leukozyten des menschlichen Blutes.

Blut 12 : 159 - 163 (1965)

MOORE, J. E. and G.W. JAMS:

A simple direct method for absolute basophil count.

Proc. soc. exper. biol. & med. 82 : 601 (1953)

PARWARESCH, M.R. und K. LENNERT:

Löslichkeit und Fixierungsmöglichkeiten der Blutbasophilen-Granula des Menschen.

Zeitschrift für Zellforschung 83 : 279 - 287 (1967)

PARWARESCH, M.R.:

Eine neue Methode zur Anreicherung der Blutleukozyten besonders der Blutbasophilen.

Blut 17 : 260 - 265 (1968)

PARWARESCH, M. R. und K. LENNERT:

Zur Differenzierung der Blutbasophilen und Gewebsmastzellen nach dem Reifegrad ihrer Granula.

Histochemie 19 : 262 - 271 (1969)

PARWARESCH, M. R., L.-D. LEDER and K.G. DANNENBERG:

On the origin of human basophilic granulocytes.

Acta haematologica 45 : 273 - 279 (1971)

PFEIFFER, C.C., M.D., PH. D., V. ILIEV, M. DE GARA and al.:

Blood histamine levels, basophil counts and trace metals in the schizophrenias.

Psychopharmacolo. bull 7 : 37 (1971)

PORTER, J.F. and R.G. MITCHELL:

The distribution of histamine in the blood of healthy and asthmatic children.

Clin. sci. 38 : 135 - 145 (1970)

PRUZANSKY, J.J. and R. PATTERSON:

Histamin relaese from leukocytes of hypersensitive individuals. I. use of several antigens.

J. allergy 38 : 315 - 320 (1966)

RILEY, J.F.:

The effects of histamine-liberators on the mast cells of the rat.

J. path. & bact. 65 : 471 (1953)

RILEY, J.F.:

The riddle of the mast cells. Atribute to Paul Ehrlich.

Lancet I: 841 - 843 (1954)

RORSMAN, H.:

Normal variation in the count of circulating basophil leucocytes in man.

Acta allergologica 17 : 49 - 65 (1962)

RORSMAN, H. and E. ROSENGREN:

Basophil leucocytes and blood histamine in urticaria.

Acta dermat. - venereologica 38 : 377 - 393 (1958)

RORSMAN, H.:

Basophil leucocytes in asthma, atopic dermatitis and psoriasis.

Acta dermat. - venereologica 38 : 175 - 179 (1958)

RORSMAN, H. and E. ROSENGREN:

Basophil leucocytes and blood histamine in urticaria.

Acta dermat. - venereologica 38 : 377 - 393 (1958)

RORSMAN, H.:

Basophil leucocytes and urticaria.

Acta derm. - vener. 37 : 121 (1957)

ROSENTHAL, S.M. and H. TABOR:

An improved colorimetric method for the estimation of histamine.

J. pharmacol. exp. ther. 92 : 425 - 431 (1948)

SAMPSON, D. and G.T. ARCHER:

Release of histamine from human basophils.

Blood 29 : 722 - 735 (1967)

SCHULTEN, H.:

Morphologie d. norm. u. patholog. Stammzellen, der Vorstufen und reifen Zellen.

Handbuch der gesamt. Hämat. Erster Band
Allgemeine Hämatolog. 1. Teil 200

SHELLEY, W.B., L. JUHLIN:

Funktional cytology of the human basophil in allergic and physiologic reactions: technic and atlas

Blood 19 : 208 - 216 (1962)

SHORE, P.A., BURKHALTER, A. and V.H. COHN, JR.:

A method for the fluorometric assay of histamine in tissues.

J. pharmacol. exp. ther. 127 : 182 - 186 (1959)

STECHER, G. und G. REINHARDT:

Polyglobulie und Polycythaemia vera.

Handbuch der inneren Medizin. Zweiter Band, zweiter Teil, fünfte Auflage, 875 - 876 (1970)

THUNBERG, R.:

Localisation of cells containing and forming histamine in gastric mucosa of the rat.

Exp. cell res. 47 : 108 - 115 (1967)

UVNÄS, B.:

Mechanisms of mediator liberation with special reference to mast cells.
Proceeding of the ninth european congress of allergology and clinical immunology.

Allergy 74 : 63 - 71 (1974)

VALENTINE. W.N., PEARCE, M.L. and J.S. LAWRENCE:

Studies on the histamine content of blood with special reference to leukemia, leukemoid reactions and leukocytoses.

Blood 5 : 623 - 647 (1950)

VALENTINE, W.N., LAWRENCE, J.S., PEARCE, M.L. and BECK, W.S.:

The relationship of the basophil to blood histamine in man.

Blood 10 : 154 - 159 (1955)

WASSERMANN, H.P., N.F. LAUBSCHER and M.V. BOTHA:

Evaluation of an improved method for direct basophil counts.

South african medical journal 45 : 491 - 492 (1971)

Lebenslauf

Am 7.7.1942 bin ich als Sohn des Hosein Motamed Ardame und dessen Ehefrau in Mashad, Iran geboren.

Nach Absolvierung der 6. Klasse der Volkshochschule in Teheran kam ich auf die Oberschule, an der ich 1963 die Reifeprüfung des naturwissenschaftlichen Zweiges ablegte.

Am 5.5.1966 begann ich mein Studium an der Freien Universität Berlin, an der ich am 28.3.1969 mein Vorphysikum und am 18.2.1971 mein Physikum bestand.

Am 22.8.1974 beendete ich mein Studium mit dem medizinischen Staatsexamen mit der Note "gut".

Von der Medizinalassistentenzeit verbrachte ich vier Monate (1.10.1974 - 31.1.1975) auf der internen Abteilung und vier Monate (1. 2.1975 - 31.5.1975) auf der geburtshilflich-gynäkologischen Abteilung des Städt. Krankenhauses Spandau-Nord. Die restlichen vier Monate (1.7.1975 - 31.10.1975) war ich auf der chirurgischen Abteilung des Städt. Krankenhauses Wilmersdorf tätig.

Seit dem 1.11.1975 bin ich auf der urologischen Abteilung des DRK-Krankenhauses Jungfernheide als Assistenzarzt beschäftigt.

Dissertationsdruck Fred Höpfner
Pestalozzistr. 106 (Ecke Bleibtreustr.) 1 Berlin 12
312 88 85
313 81 98